



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Pediatria

### **Febre Amarela, Dengue, Zika e Chikungunya: a Propósito de um Caso Clínico**

Yolanda dos Anjos Andrade de Sá Pereira

---

**Julho'2017**



# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Pediatria

### **Febre Amarela, Dengue, Zika e Chikungunya: a Propósito de um Caso Clínico**

Yolanda dos Anjos Andrade de Sá Pereira

**Orientado por:**

Dr<sup>a</sup> Sara Roque Pinto

---

**Julho'2017**

## ABSTRACT

Expõe-se o caso de um adolescente residente em Angola, de férias em Portugal, que se apresenta com quadro febril acompanhado de mal-estar geral, mialgias e hepatomegália. Foi internado para investigação etiológica com resolução espontânea após 11 dias de doença e apenas tratamento de suporte. O diagnóstico etiológico não fica definitivamente esclarecido, mas levanta a questão da dificuldade do diagnóstico diferencial de Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e Zika, todas com clínica sobreponível, endêmicas em Angola e cujas serologias têm elevado potencial de reação cruzada. Se a suspeita for equacionada nos primeiros 6 dias de doença, deve ser feito o diagnóstico por biologia molecular. A existência do vetor de transmissão em território português juntamente com a proximidade cultural de Portugal com as suas antigas colónias (Brasil, Angola, etc.) o reconhecimento precoce de quadro de possível infeção pelo vírus da Zika é imperativo ao clínico português para que seja possível fazer um diagnóstico definitivo e um acompanhamento apropriado.

**Palavras-chave:** Febre Amarela, Dengue, Chikungunya, Zika, Reatividade cruzada

*Este trabalho apresenta a opinião do autor e não da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.*

## ENGLISH

This is the case of an adolescent from Angola, on vacation in Portugal, that presents with that presents with febrile illness accompanied by myalgia and hepatomegaly. The patient is committed to the hospital for ethological investigation of the illness ad having spontaneous resolution after 11 days with supportive treatment. The ethological diagnosis is not determined, but raises the question on the difficulty in the differential diagnosis of Yellow Fever, Dengue, Chikungunya and Zika, all of which have similar clinical presentation, are endemic to Angola and have high rates of cross reactive serum immunoglobulins. This means that if one of these diseases is suspected, molecular biology should be used to determine the diagnosis during the first six days of illness while viremia is still high. The existence of the primary vector on Portuguese territory together with the cultural proximity between Portugal

and its old colonies (Brazil, Angola, etc.), the early recognition of possible Zika infection is imperative to the Portuguese clinician so that a definite diagnosis can be made, and appropriate measures be taken.

**Key-words:** Yellow Fever, Dengue, Chikungunya, Zika, Cross-reactivity

## INDÍCE

<b>Introdução</b>	5
<b>Caso Clínico</b>	6
<b>Discussão</b>	8
Epidemiologia	8
Flavivírus	9
Febre Amarela	9
Dengue	10
Zika	11
Chikungunya	12
Diagnóstico	13
<b>Conclusão</b>	16
<b>Bibliografia</b>	17

## INTRODUÇÃO

Quando se pensa em Febre Amarela, Dengue, Zika e Chikungunya, pensa-se em países de zonas tropicais e não em países europeus como é o caso de Portugal. No entanto, Portugal está numa condição especial em que o conhecimento e reconhecimento destes vírus tropicais é da maior importância para o clínico português.

Começando pelo vetor comum a todos estes, o mosquito *Aedes aegypti* existe em território português, no arquipélago da Madeira, onde já foram relatados vários casos de Dengue<sup>[1]</sup>. Outro fator é também a proximidade cultural entre Portugal e os países do antigo império português, que mantêm a língua portuguesa e por isso são fonte não só de turismo, mas também de imigração. São estes os Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa (PALOPs) e o Brasil. O *Aedes aegypti* encontra-se presente nestes países, os quais são zonas endémicas da Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e de Zika.

A recente epidemia de Zika no Brasil, onde houve mais de 100 mil casos confirmados entre abril de 2015 e novembro de 2016<sup>[2]</sup>, deu-nos a conhecer melhor este vírus antigamente conhecido como tendo uma apresentação similar ao Dengue, embora menos grave. No entanto, algumas particularidades da doença por vírus Zika, nomeadamente as suas formas de transmissão humano a humano e as suas complicações fetais, tornam essencial o seu diagnóstico, não só para o indivíduo mas para a saúde pública.

O caso que se segue é o caso de um adolescente de 17 anos residente em Angola que veio de férias para Portugal.

## CASO CLÍNICO

CMF, 17 anos, sexo masculino, natural e residente em Angola, de férias em Portugal desde 13 dias antes, sem antecedentes pessoais relevantes. Cerca de dois meses antes da viagem, terá feito vacina da Febre Amarela no hospital da área de residência em Angola.

Aparentemente saudável até três dias antes do internamento, quando inicia quadro de febre (máximo 39,8°C, axilar), de 6 em 6 horas, sem cedência a antipiréticos, acompanhada de mialgias, dor lombar e mal-estar generalizado. O doente negava disúria, dor abdominal, vômitos, diarreia, alterações do comportamento, prostração ou outra sintomatologia acompanhante. Negava toma de outros fármacos, tóxicos ou produtos de erva. Sem outro contexto epidemiológico conhecido.

Por iniciativa da mãe, terá feito quatro tomas de antimaláricos que trazia consigo de Angola (Coartem®, *artemether lumefantrine*) em D<sub>1</sub> de doença.

Recorreu ao Serviço de Urgência Pediátrico do Hospital de Santa Maria em Lisboa, em D<sub>2</sub> de doença, por persistência do quadro. À observação destacava-se hepatomegalia discretamente dolorosa, palpável na linha médio-clavicular, 3-4 cm abaixo do rebordo costal. Sem esplenomegalia palpável. Sem outras alterações ao exame objetivo. Fez avaliação analítica sanguínea com os seguintes resultados relevantes: Hemoglobina 14.7 g/dL, Leucócitos 5640 mcL, Neutrófilos 86.4%, Linfócitos 10.8%, Plaquetas 98 000 mcL, Ureia 24, Creatinina 1, Sódio 132 mEq/L, Potássio 3.3 mmol/L, ALT 86, Bilirrubina Total 1.3 mg/dL, Proteína C Reativa 10.48 mg/dL (Tabela 1). Exame sumário de urina sem alterações; urocultura negativa; hemoculturas negativas. Tendo vindo de uma área onde a malária é endémica, foi feita pesquisa de *Plasmodium spp.* que foi também negativa. Teve alta com indicação para manter terapêutica sintomática.

No dia seguinte, D<sub>3</sub> de doença, recorre novamente ao Serviço de Urgência onde faz nova avaliação analítica ao sangue com os seguintes resultados relevantes: Hemoglobina 13.6 g/dL, Leucócitos 4860 mcL, Neutrófilos 81.1%, Linfócitos 13.1%, Plaquetas 57 000 mcL, Tempo de Protrombina 20.4/11.6 segundos, *International Normalized Ratio* (INR) 1.76, Tempo parcial de tromboplastina ativada (aPTT) 33.2/29 segundos, Creatinina 1.00, Alanina aminotransferase (ALT) 135 U/L, Aspartato aminotransferase (AST) 284 U/L, Bilirrubina Total 3.74, Gama-Glutamiltranspeptidase (GGT) 216 U/L, Albumina 4.2 g/dL, Proteína C

Reativa 10 mg/dL (Tabela 1). Fez também nova pesquisa de *Plasmodium spp.* com resultado negativo.

Foi internado para vigilância e investigação. Observou-se evolução sintomática com agravamento da dor lombar, piorando em decúbito dorsal, sem alteração com anteflexão do tronco; e cansaço para pequenos e médios esforços. Ao exame objetivo detetou-se icterícia das escleróticas e sublingual e hepatomegália palpável 3 cm abaixo do rebordo costal. Sem artrite, exantemas, conjuntivite ou outras alterações ao exame objetivo.

Em D<sub>4</sub> de doença (D<sub>1</sub> de internamento) fez ecografia abdominal que mostrou hepatomegália ligeira homogênea; sem outras alterações relevantes. Faz nova avaliação analítica com os seguintes resultados: Hemoglobina 12.4 g/dL, Leucócitos 5680 mcL, Neutrófilos 62% (3520 mcL), Linfócitos 20% (1140 mcL), Eosinófilos 7% (400 mcL), Basófilos 0%, Monócitos 4% (230 mcL), Plaquetas 45 000, Tempo de Protrombina 12/11.6 segundos, INR 1.06, aPTT 27.8/29 segundos, Fibrinogénio 219 mg/dL, Glicose 102 mg/dL, Ureia 23 mg/dL, Creatinina 0.9 mg/dL, Sódio 131 mEq/L, Potássio 3.9 mmol/L, Osmolalidade 268 mOsm/Kg, Amilase 43 U/L, Lipase 65 U/L, ALT 184 U/L, AST 329 U/L, Bilirrubina Total 5.18 mg/dL, Bilirrubina Direta 2.9 mg/dL, Lactato Desidrogenase (LDH) 1177 U/L, GGT 212 U/L, Cálcio 8.5 mg/dL, Magnésio 2.1 mEq/L, Proteínas Totais 6 g/dL, Albumina 3.6 g/dL, Ácido úrico 4.4 mg/dL, Creatina Cinase 319 U/L, Proteína C Reativa 7.56 mg/dL, Fator V 82%, Fator VII 35% (<), Fosfatase Alcalina 166 IU/L, Ferritina 76 899 ng/mL, Triglicéridos 434 mg/dL e CD25 solúvel aumentado.

O doente foi internado na Unidade de Infeciologia para prosseguir a investigação. Perante estes resultados houve a suspeita de Síndrome Hemofagocítico (SH) secundário a infeção. Foi então feito mielograma, que não mostrou alterações, e foram pedidas serologias/cargas virais sanguíneas: vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) 1 e 2, ambos negativos; Adenovírus com imunoglobulina M (IgM) negativa e imunoglobulina G (IgG) negativa; Citomegalovírus com ADN-CMV não detetado; Vírus Epstein-Barr com carga viral ADN-EBV <334 cópias/ml; Hepatite B com AgHBs negativa e Anti-HBs negativa; Hepatite C com Anti-VHC negativa. Não se comprovou assim presença de SH secundário a infeção, pois o doente só cumpria 4 dos 8 critérios.

A partir de D<sub>3</sub> de internamento, sob apenas analgesia e hidratação, observa-se apirexia mantida, melhoria franca do estado geral e normalização dos valores laboratoriais, nomeadamente a ferritina.



Teve alta em D<sub>7</sub> de internamento, D<sub>11</sub> de doença, assintomático. Nesta fase, perante a melhoria espontânea do quadro clínico, e tendo ultrapassado a janela diagnóstica para diagnóstico por biologia molecular, foi pedida serologia de Dengue no Hospital de Santa Maria (método imunocromatográfico), IgM positiva e IgG negativa e seguiram serologias para Febre Amarela, Dengue, Zika e Chikungunya para o Instituto Nacional de Saúde (INSA). Teve alta com o diagnóstico provisório de Dengue.

Foi reobservado em consulta cerca de 3 semanas depois, mantendo-se clinicamente bem, sem organomegalias, obtendo-se nessa altura o resultado das serologias enviadas para o INSA, que foi semelhante para os quatro vírus testados: IgM negativa e IgG >32. As serologias foram repetidas nesta fase, sendo que não se observou aumento do título de IgG, pelo que não foi possível confirmar o diagnóstico definitivo.

## DISCUSSÃO

### EPIDEMIOLOGIA

Apresentamos o caso clínico dum doente natural e residente em Angola onde prevalecem várias doenças tropicais infecciosas. Naturalmente, sendo Angola um país com alta prevalência de malária, a primeira ação diagnóstica é confirmar o resultado negativo de pesquisa de *Plasmodium spp.* Em qualquer doente que inicie quadro de febre e que tenha estado, no último ano, numa área onde a Malária é endémica, deve ser feita pesquisa de *Plasmodium spp.* Em Angola, 90% dos casos são causados por *P. falciparum*, que requer intervenção urgente, visto que o agravamento clínico pode ocorrer rápida e inesperadamente, até à morte<sup>[3,4]</sup>.

Como tal, ao longo do internamento a pesquisa de *Plasmodium spp.* foi repetida três vezes sendo o resultado negativo confirmado em todas as vezes.

Outras infeções endémicas em Angola são as doenças causadas por vírus da família *Flaviviridae spp.* nomeadamente Dengue, Febre Amarela e Zika, e também a Chikungunya. Todas apresentam quadros clínicos semelhantes (Tabela 2). Estes são todos arbovírus, ou seja, são transmitidos pela picada de artrópodes infetados, mosquitos ou carraças. O *Aedes aegypti*, uma espécie de mosquito diurno que habita em zonas urbanas dos trópicos e subtropicais, é o principal vetor de transmissão de doença destes quatro vírus.

## FLAVIVÍRUS

Flavivírus, um género de vírus da família *Flaviviridae*, é um grupo de pequenos vírus de ácido ribonucleico (ARN), **de impacto significativo** na saúde global, sendo que só o vírus do Dengue infeta mais de 100 milhões de pessoas por ano com mais de 21.000 mortes anuais [5,6]. Estes vírus são endémicos em muitos países tropicais e subtropicais africanos, e da América do Sul.

Os flavivírus apresentam uma estrutura icosaédrica, com uma cápsula lipídica coberta por projeções glicoproteicas M (membrana) e E (capsulares, *envelope*); esta última exhibe propriedades biológicas importantes por ser a zona de neutralização viral. Para além destas proteínas, o ARN codifica ainda a proteína C (*capside*) e sete proteínas não-estruturais – NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 – das quais se destaca a NS1 que é expressa na superfície das células infetadas e excretada como antigénio ligante ao complemento [7].

Estes tipos de vírus são frequentes em Angola e constituem risco de infeção tanto para a população residente como para viajantes para esta região [3,4].

Todos os flavivírus têm um mecanismo de infeção inicial semelhante, em que ocorre replicação vírica local e posterior disseminação e virémia. Os passos seguintes da patogenia da doença normalmente dependem mais da situação clínica do que do tipo de vírus.

## FEBRE AMARELA

A fase inicial da infeção pelo vírus da Febre Amarela (VFA) pode ser inferida dos estudos feitos em humanos vacinados. Dois dias após a inoculação, os níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) aumentam, juntamente com outras citocinas e têm um pico – pico primário – e passados sete dias têm outro pico em resposta à virémia – pico secundário.

A replicação viral começa nos nódulos linfáticos e dissemina-se para o restante organismo pela infeção de macrófagos circulantes e, seguidamente, das células de Kupffer, tendo particular propensão pelo tecido hepático, renal, pulmonar, suprarrenal, esplénico e da medula óssea. Esta disseminação começa a provocar lesão nos tecidos alvo, como por exemplo, lesão hepatocelular. Em doença grave avançada, a lesão hepatocelular é causada por apoptose dos hepatócitos infetados, com necrose até 60% dos lóbulos, levando a icterícia grave e aumento acentuado das transaminases hepáticas (ALT e AST) e da bilirrubina.

A infecção pelo VFA pode manifestar-se de forma variada, desde uma síndrome gripal autolimitada a febre hemorrágica potencialmente fatal. Após o período de incubação de três a seis dias, inicia-se o quadro de febre, cefaleias e mialgias acompanhadas de conjuntivite, rubor facial e bradicardia (sinal de Faget), acompanhados de leucopénia. Este quadro pode resolver espontaneamente ou haver remissão temporária, durante horas ou poucos dias, com posterior recidiva. Esta apresenta um quadro mais grave e é caracterizada por febre alta, prostração profunda, icterícia e diátese hemorrágica com petéquias, púrpura e hemorragia digestiva, que podem ter origem multifatorial. Este quadro pode evoluir para hipotensão, choque, acidose metabólica, arritmia ou edema cerebral associado a convulsões, coma e morte.

A Febre Amarela é uma doença sem terapêutica dirigida, mas de possível prevenção pela vacinação com vírus atenuado 17D que se traduz em imunidade em mais de 95% dos vacinados. Contudo existem casos, muito raros, de infecção potencialmente fatal sistémica e/ou do sistema nervoso central associada à toma da vacina. Esta infecção associada à vacina mimetiza a infecção comum tanto clinicamente como nos exames complementares de diagnóstico, com sinais clínicos a iniciar dois a cinco dias após a toma da vacina <sup>[7]</sup>.

Neste caso, tendo em conta o tempo entre o início do quadro sintomático e a toma da vacina da Febre Amarela, bem como a eficácia da vacina é pouco provável que o diagnóstico seja infecção por Febre Amarela ou mesmo infecção associada à toma da vacina.

## DENGUE

A Dengue é uma doença com origem na infecção por um dos quatro serotipos do vírus da Dengue (VDEN) que corresponde a quatro serotipos diferentes (VDEN-1, VDEN-2, VDEN-3 e VDEN-4), geneticamente e antigenicamente semelhantes, cujas formas de disseminação e manifestações clínicas de doença são semelhantes. Isto é importante porque uma segunda infecção por outro serotipo do VDEN está associada a doença mais grave, sendo a evolução desta para febre hemorrágica muito mais frequente <sup>[7]</sup>.

A patogénese da Dengue é semelhante à patogénese da Febre Amarela, tendo uma fase inicial de replicação viral local e posterior disseminação hemática pelo plasma e macrófagos infetados até à virémia. Na maioria dos casos esta infecção é subclínica e assintomática. Em alguns casos, pode desenvolver-se a “Febre da Dengue”, fase sintomática caracterizada por uma síndrome gripal. Supressão da medula óssea bem como aumento das transaminases

hepáticas são comumente encontrados. Este quadro é normalmente autolimitado, resolvendo-se em quatro a sete dias, mas pode evoluir para um quadro de febre hemorrágica [8].

A Febre Hemorrágica da Dengue é explicada por súbita extravasão de plasma para o espaço extravascular, como hemorragia para a cavidade peritoneal ou pleural, com choque hipovolêmico grave. Está demonstrado que a evolução para febre hemorrágica está associada a maiores concentrações de citocinas pró-inflamatórias séricas sugerindo que o aumento da permeabilidade vascular é mediado por resposta imune, também chamada *cytokine storm* [9].

Como já foi referido, a evolução para febre hemorrágica é mais prevalente em segundas infecções com serotipo diferente da primeira infecção. Isto pode ser explicado pela ação do sistema imune adaptativo que tanto tem um papel protetor como um papel prejudicial. A infecção prévia por um dos serotipos confere imunidade a longo prazo contra esse serotipo e imunidade a curto prazo (meses) contra os outros serotipos. Ao fim de alguns meses, os anticorpos em vez de conferirem imunidade, aumentam a gravidade da infecção por um mecanismo chamado amplificação da infecção dependente de anticorpos. Esse mecanismo depende do tropismo do VDEN por monócitos e macrófagos, que expressam recetores de superfície para a imunoglobulina, e criam a oportunidade para um aumento do *uptake* viral através de complexos virão-anticorpo em que o número de moléculas de anticorpos ligados ao virão é inferior ao necessário para neutralizá-lo. Quando há anticorpos prévios a um VDEN, há reatividade cruzada (*cross-reactivity*) dos diferentes serotipos o que amplifica este processo e pode ser a origem de maior resposta por citocinas. Isto traduz-se num quadro clínico mais grave e explica a frequência aumentada de febre hemorrágica, em 15 a 80 vezes maior, em segundas infecções. [10]

Esta reatividade cruzada entre serotipos diferentes de VDEN tem sido demonstrada também em infecções por outros flavivírus, como por exemplo o vírus da Zika, em que a infecção prévia por VDEN levou à amplificação da replicação viral do vírus da Zika, com agravamento do seu quadro clínico [11].

## ZIKA

Durante os últimos anos a Zika passou de doença pouco conhecida para uma ameaça à saúde global. O vírus da Zika (VZIK) foi isolado pela primeira vez em 1947 e desde então foi conhecido como provocador de uma doença *Dengue-like* embora menos grave e sem

sintomas hemorrágicos <sup>[12]</sup>. Em maio de 2015, com a propagação do vírus de África para a América do Sul, nomeadamente para o Brasil, iniciou-se uma epidemia de Zika que só reduziu a sua atividade em novembro de 2016. Só em 2015 estimam-se que tenham ocorrido entre 500 mil e 1,5 milhões de casos no Brasil. Este aumento exponencial de casos levou a que tanto o VZIK como a doença pudessem ser melhor estudados e caracterizados. <sup>[2,12]</sup>

A Zika é assintomática em cerca de 80% dos infetados e quando sintomática apresenta uma evolução semelhante aos outros flavivírus. Após cerca de três a doze dias de incubação inicia-se quadro febril geralmente autolimitado e que resolve espontaneamente em dois a sete dias. Em alguns casos este quadro pode ser acompanhado de mialgia, cefaleia, conjuntivite, artralgias ou exantema maculopapular <sup>[13]</sup>.

Na recente epidemia de Zika foi descoberto que esta também pode ser transmitida por várias vias não vetoriais, diretamente de humano para humano por via sexual pelo esperma masculino <sup>[14]</sup>, por via transplacentária, sendo descoberto até ARN-VZIK no líquido amniótico, e pelo leite materno. Também foi encontrado VZIK numa pequena percentagem de recetores de sangue doado levantando a possibilidade de transmissão por via transfusional <sup>[15]</sup>. Por outro lado, a infeção pelo VZIK também foi associada a outras condições. Em mulheres grávidas, pensa-se que esteja associada a um aumento de 20 vezes de microcefalia no feto; e em indivíduos infetados por VZIK houve um aumento de neuropatia periférica sugestiva de Síndrome de Guillain-Barré <sup>[16,17]</sup>.

Por estas razões, a necessidade de um diagnóstico definitivo com testes sensíveis e específicos é cada vez maior. Durante a fase aguda de doença (primeiros 5 dias de doença) o VZIK pode ser diagnosticado por deteção do ARN sérico, sendo este o meio de diagnóstico mais sensível. O VZIK, tal como todos os flavivírus, apresenta uma baixa sensibilidade por falsos positivos causados por reatividade cruzada, especialmente com o VDEN. A maior limitação deste teste é a pequena janela em que é sensível. A deteção de RNA-VZIK na urina e na saliva também já foi desenvolvida. Esta apresenta maior sensibilidade do que no plasma com manutenção de valores altos até 15 dias após o início da doença, aumentando assim a janela de diagnóstico definitivo <sup>[18,19]</sup>.

## CHIKUNGUNYA

O vírus da Chikungunya (VCHIK) é um vírus do género Alphavírus, da família *Togaviridae*. Este é um pequeno vírus ARN de cadeia simples, capsulado e esférico. Tal como nos

flavivírus, as glicoproteínas de superfície – proteínas E1, E2, e E3 – são responsáveis pelo reconhecimento do recetor e entrada nas células alvo por fusão de membrana<sup>[20]</sup>.

O VCHIK infecta as células alvo maioritariamente por endocitose por ligação do virão à célula pela sua glicoproteína de superfície E2 e posterior fusão com a membrana, sendo que esta proteína é a proteína contra a qual as imunoglobulinas são produzidas na resposta imune neutralizante<sup>[21, 22]</sup>.

O tempo de incubação do VCHIK é entre três a sete dias, e nem todos os indivíduos apresentarão sintomas. A Chikungunya geralmente inicia-se com febre alta, que pode durar até duas semanas. Na maioria dos doentes, esta febre é acompanhada de artralrias poliarticulares debilitantes, mais frequentemente das pequenas articulações. Os infetados com VCHIK muitas vezes adotam uma postura corcunda devido às dores intensas na coluna vertebral, sinal que deu o nome à doença, nalguns dialetos africanos. Em cerca de metade dos doentes há manifestações cutâneas de exantema maculopapular normalmente presente nas extremidades, não poupando as palmas das mãos e as plantas dos pés. Quadros gripais de fadiga, mialgias, náuseas e vômitos também são muito comuns<sup>[21, 23]</sup>.

O quadro sintomático de Chikungunya é muitas vezes indistinguível de Dengue ou até de Malária. Para além disso, a leucopenia, neutropénia, linfopénia e trombocitopénia são transversais a estas infeções virais dificultando o seu diagnóstico sem recorrer a exames laboratoriais serológicos complementares. A virémia do VCHIK é coincidente com o início do quadro de febre alta, durando cerca de seis dias. A infeção é confirmada nos primeiros sete a dez dias de doença pelo isolamento do vírus ou de ARN viral. Posteriormente a esta janela, pode-se pesquisar anticorpos específicos anti-VCHIK que persistem elevados no soro durante meses e podem ser detetados quatro dias após o início do quadro.

No entanto, há casos de doentes que iniciam quadros de febre acompanhada de mialgias e/ou artralrias vindos de áreas em que tanto a Chikungunya e outros flavivírus são endémicos, em que os resultados serológicos foram inicialmente positivos para VDEN que posteriormente se tornaram negativos e positivos para VCHIK<sup>[24]</sup>.

Com a sobreposição de vetores de transmissão e áreas endémicas em que a infeção por estes vírus é frequente, o diagnóstico diferencial é cada vez mais difícil. Por isto, é aconselhado que sempre que é feita pesquisa para VCHIK também ser feita pesquisa VDEN, mesmo após resolução do quadro.

## DIAGNÓSTICO

O diagnóstico laboratorial da maioria dos casos em que a viremia já reverteu depende dos testes serológicos por determinação do anticorpo IgM e IgG por *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Quando o teste é feito entre D<sub>7</sub> e D<sub>10</sub> de doença tem sensibilidade superior a 95%. Num doente com sintomatologia compatível, o diagnóstico é confirmado pelo aparecimento de IgM positivo ou aumento até quatro vezes do nível dos anticorpos séricos IgG. No entanto, em indivíduos em que há circulação simultânea de vários flavivírus poderá haver extensa reatividade cruzada entre flavivírus diferentes <sup>[7]</sup>.

A reatividade cruzada é a capacidade imunológica do mesmo anticorpo reconhecer antígenos de espécies virais diferentes. Esta reatividade cruzada também pode causar confusão no diagnóstico serológico entre flavivírus pois pode levar a falsos positivos aquando da pesquisa de anticorpos específicos IgG e IgM.

Na infeção por flavivírus o controlo da infeção é tanto dependente do sistema imune inato como adaptativo de forma a conseguir uma resposta mediada por anticorpos rápida, crítica ao controlo da disseminação da infeção <sup>[25]</sup>. O principal antígeno envolvido na resposta mediada por anticorpos é a glicoproteína da capsula, proteína E, que é semelhante em todos os vírus deste género.

Em África, incluindo Angola, há circulação simultânea dos vírus da Febre Amarela, Dengue, Zika e Chikungunya. Anticorpos contra flavivírus diferentes têm-se tornado um problema frequente no diagnóstico. Por exemplo, anterior infeção pelo vírus da Dengue pode interferir com a interpretação serológica de nova infeção por flavivírus. Vacinação recente para o vírus da Febre Amarela pode também constituir um problema ao diagnóstico serológico pois pode traduzir-se em falsos positivos.

Outro teste diagnóstico que pode ser utilizado para diagnóstico de flavivírus é a pesquisa de proteínas do complemento que se fixam a anticorpos contra a proteína NS1. Este teste é relativamente específico na distinção entre complexos antígenicos diferentes e tem o benefício acrescido de ter um aumento tardio e prolongado. Este aumento acontece normalmente 4 a 6 semanas após a infeção e permanece elevado durante cerca de 3 anos, podendo conduzir ao diagnóstico de infeção recente, mesmo após a descida dos anticorpos IgM. Para além disto, estudos recentes mostram uma elevação antecipada da NS1 na infeção pelo vírus da Dengue o que pode auxiliar no seu diagnóstico. <sup>[26]</sup>

## TESTES DIAGNÓSTICOS PARA ZIKA, CHICKUNGYNIA E DENGUE

Com o aumento das áreas em que há transmissão local de arbovírus que causam doença febril acompanhada por exantema, mialgias ou artralgias, tornou-se também importante dispormos de testes diagnósticos laboratoriais com capacidade de os diferenciar.

Segundo as recomendações mais recentes do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), deve ser considerada a possibilidade de infecção por VZIK, VCHIK, ou VDEN em todos os doentes que se apresentam com quadro febril agudo acompanhado de exantema, mialgias ou artralgias e que tenham estado numa área endémica ou epidémica.

Os principais testes laboratoriais usados são testes moleculares por reverse *transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) e pesquisa de imunoglobulinas M (IgM).

Os testes moleculares RT-PCR detetam o ARN específico do vírus na origem da doença. Estes costumam ser positivos durante os primeiros sete dias.

A pesquisa de IgM normalmente é detetável quatro dias após o início do quadro e podem persistir durante 2 a 12 semanas. Contudo, a reatividade cruzada entre os vírus do género flavivírus leva a falsos positivos. Por isto, um resultado positivo só confirma a existência de infecção por flavivírus, neste caso VZIK ou VDEN <sup>[27]</sup>.

Tendo isto em conta pode ser feita ainda *plaque-reduction neutralization test* (PRNT) que deteta e mede os anticorpos capazes de neutralizar certos vírus <sup>[28]</sup>. Este pode ser usado para diferenciar o VZIK do VDEN como causa primária de infecção. Infelizmente o PRNT apresenta resultados falsos positivos em indivíduos vacinados contra outro flavivírus (vacina da Febre Amarela ou a vacina da Encefalite Japonesa) ou que tenha tido uma infecção prévia por flavivírus. Assim, este teste não é muito útil para indivíduos que residem em áreas endémicas a vários flavivírus.

O caso descrito é um caso típico de doença febril em doente com recente contato com uma área endémica e exemplifica a dificuldade de se conseguir um diagnóstico definitivo através de serologias. O quadro clínico que apresentava é inespecífico; poder-se-ia tratar de Dengue, Chikungunya ou Zika. A Febre Amarela torna-se improvável, dada a história de vacinação cerca de 2 meses antes. Existem descrições de síndrome hemofagocítico secundário a Dengue, o que seria um dado a favor deste diagnóstico, assim como a positividade da IgM no método imunocromatográfico. No entanto, este método tem baixa especificidade, não se vindo a confirmar posteriormente.



A dificuldade do diagnóstico neste caso, complica-se com a história de vacinação prévia de Febre Amarela, que aumenta a probabilidade de reação cruzada dos testes diagnósticos. Por outro lado, a hipótese diagnóstica tardia destes vírus tropicais não permitiu que fossem testados por biologia molecular, método bastante mais específico que os métodos serológicos.

A Tabela 2 resume as características principais dos diagnósticos diferenciais neste caso clínico.

## CONCLUSÃO

A recente epidemia de Zika onde, em 2015, houve mais de 1,5 milhões de casos suspeitos no Brasil <sup>[2]</sup>, revelou que este vírus, antigamente conhecido como sendo inócuo, pode apresentar consequências irreversíveis e devastadores como a síndrome de Guillian-Barré, uma doença neuro-muscular periférica autoimune, e a microcefalia no feto de grávidas infectadas.

A existência de *A. aegypti* em Portugal e a proximidade cultural com áreas endémicas deste vírus, tornam a sua transmissão propícia e o seu reconhecimento de grande importância para o clínico português.

Segundo as recomendações mais recentes do CDC, em doentes com recente contacto e doença febril ativa acompanhada de exantema, mialgias ou artralgias, deve ser feita logo pesquisa de VCHIK, VDEN e VZIK por RT-PCR quando o dente ainda se encontra na janela de pesquisa. Após esta janela o diagnóstico torna-se mais complicado tendo em conta a reatividade cruzada dos anticorpos IgM e IgG dos flavivírus <sup>[27]</sup>.

O caso descrito é um caso típico de doença febril em doente com recente contato com uma área endémica e exemplifica a dificuldade de se conseguir um diagnóstico definitivo quando não há pesquisa atempada destes vírus. Após análise dos resultados das pesquisas por imunoglobulinas M e G destes vírus põe-se a hipótese de que o agente etiológico mais provável seja VDEN. No entanto, isto não foi confirmado pelo teste com o resultado de IgM positiva para VDEN não foi reproduzível em análise posterior (feita por um laboratório diferente).

Neste momento não existe terapêutica antiviral dirigida ao vírus da Zika o que torna a prevenção o fator mais importante no controlo da doença. Esta passa por evicção de picada por mosquito, rastreio de todas as grávidas e uso de preservativo em homens com doença febril acompanhada por exantema, mialgias ou artralgias que tiveram em zonas em que a Zika é endémica. A deteção de RNA-VZIK na urina e na saliva são resultados promissores para o desenvolvimento de um teste diagnóstico mais sensível no futuro <sup>[15]</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

1. European Commission, Directorate General for Health and Food Safety, Public Health, Communicable diseases. Dengue fever in Madeira – Health advice for travelers (2012, Oct) Retrieved from [https://ec.europa.eu/health/communicable\\_diseases/events/travel\\_advice\\_dengue\\_201211\\_en](https://ec.europa.eu/health/communicable_diseases/events/travel_advice_dengue_201211_en)
2. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional, Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia (2016, Jan) Retirado de <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/22/microcefalia-protocolo-de-vigilancia-e-resposta-v1-3-22jan2016.pdf>
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Health Information for International Travel. Yellow Fever & Malaria Information, by Country – Angola (2017, Feb) Retirado de <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/yellow-fever-malaria-information-by-country/angola#seldyfm707>
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Health Information for Travelers to Angola (2017, Mar) Retirado de <https://wwwnc.cdc.gov/travel/destinations/clinician/none/angola#vaccines-and-medicines>
5. Gubler D, et al. Flaviviruses: Past, Present and Future. In Molecular Virology and Control of Flaviviruses. 2012 Jan. ISBN: 978-1-910190-99-9
6. Diamond MS, Shrestha B, Marri A, Mahan D, Engle M. B Cells and Antibody Play Critical Roles in the Immediate Defense of Disseminated Infection by West Nile Encephalitis Virus. *Journal of Virology*. 2003;77(4):2578-2586
7. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases – Eighth Edition. 2015. ISBN 9781455748013
8. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Dengue – Epidemiology (2014, Jun) Retrieved from <https://www.cdc.gov/dengue/epidemiology/index.html>
9. Alwis R, Williams KL, Schmid MA, et al. Dengue Viruses Are Enhanced by Distinct Populations of Serotype Cross-Reactive Antibodies in Human Immune Sera. *PLOS Pathogens*. 2014 Oct 2;10(10):e1004386

10. Rothman AL. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol*. 2011 Jul 15;11(8):532-43
11. Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. *Nature immunology*. 2016;17(9):1102-1108.
12. World Health Organization (WHO). Zika situation report: Zika virus, Microcephaly and Guillain-Barré syndrome (2016, Nov) Retrieved from <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/251648/1/zikasitrep24Nov16-eng.pdf?ua=1>
13. Sikka V, Chattu VK, Popli RK, et al. The Emergence of Zika Virus as a Global Health Security Threat: A Review and a Consensus Statement of the INDUSEM Joint working Group (JWG). *Journal of Global Infectious Diseases*. 2016;8(1):3-15
14. Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau V-M. Potential Sexual Transmission of Zika Virus. *Emerging Infectious Diseases*. 2015;21(2):359-361
15. Mishra B, Behera B. The mysterious Zika virus: Adding to the tropical flavivirus mayhem. *Journal of Postgraduate Medicine*. 2016;62(4):249-254.
16. Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, Szejnfeld PO, et al. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016 Jan;47(1):6-7
17. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Rapid Risk Assessment: Zika virus disease epidemic: potential association with microcephaly and Guillain-Barré syndrome (2016, Jan) Retrieved from <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/rapid-risk-assessment-zika-virus-first-update-jan-2016.pdf>
18. Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis*. 2015 Jan;21(1):84-6.
19. Musso D, Roche C, Nhan TX, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol*. 2015 Jul;68:53-5.
20. Jose J, Snyder JE, Kuhn RJ. A structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. *Future microbiology*. 2009;4:837-856.

21. Thiberville SD, Moyon N, Dupuis-Maguiraga L, Nougaiere A, Gould EA, Roques P, de Lamballerie X. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Res.* 2013 Sep;99(3):345-70
22. Lum F-M, Teo T-H, Lee WWL, Kam Y-W, Rénia L, Ng LFP. An Essential Role of Antibodies in the Control of Chikungunya Virus Infection. *The Journal of Immunology Author Choice.* 2013;190(12):6295-6302
23. Staples JE, Breiman RF, Powers AM. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clin Infect Dis.* 2009 Sep 15;49(6):942-8
24. Sharp TM. Differentiating Chikungunya from Dengue: A Clinical Challenge, CDC Expert Commentary (2015, Sep) Retrieved from <http://www.medscape.com/viewarticle/831523>
25. Diamond MS, Shrestha B, Marri A, Mahan D, Engle M. B Cells and Antibody Play Critical Roles in the Immediate Defense of Disseminated Infection by West Nile Encephalitis Virus. *Journal of Virology.* 2003;77(4):2578-2586
26. Kassim FM, Izati MN, TgRogayah TA, Apandi YM, Saat Z. Use of dengue NS1 antigen for early diagnosis of dengue virus infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2011 May;42(3):562-9
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Vector-Borne Diseases. Revised diagnostic testing for Zika, chikungunya, and dengue viruses in US Public Health Laboratories (2016, Feb) Retrieved from <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/denvchikvzikv-testing-algorithm.pdf>
28. Schmidt NJ, Dennis J, Lennette EH. Plaque reduction neutralization test for human cytomegalovirus based upon enhanced uptake of neutral red by virus-infected cells. *Journal of Clinical Microbiology.* 1976;4(1):61-66.

## ANEXOS

TABELA 1

	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>10</sub>
<b>Hemograma</b>					
Hemoglobina (g/dL)	14,7	13,6	12,4	10,8	11,1
Leucócitos (mcL)	5640	4860	5680	7520	12 900
Neutrófilos (%)	86,4	81,1	62	42	44
Linfócitos (%)	10,8	13,1	20	45	
Plaquetas (mcL)	98 000	57 000	45 000	61 000	170 000
<b>Bioquímica</b>					
PCR (mg/dL)	10,48	10	7,56	3,32	0,52
Ureia (mg/dL)	24			17	18
Creatinina (mg/dL)	1	1		0,86	0,7
Sódio (mEq/L)	132				138
Potássio (mmol/L)	3,3				4,4
AST (U/L)		284	329	434	83
ALT (U/L)	86	135	184	298	174
Bilirrubina Total (mg/dL)	1,3	3,74	5,18	4,38	1,46
Bilirrubina Direta (mg/dL)			2,9	3,03	0,89
GGT (U/L)		216	212	157	174
Fosfatase Alcalina (IU/L)			166	211	249
Ferritina (ng/mL)			76 899	11 685	2190
LDH (U/L)			1177	927	555
Proteínas Totais (g/dL)			6		
Albumina (g/dL)		4,2	3,6	3,2	4,1
Ácido úrico (mng/dL)			4,4	3,5	
CK (U/L)			319		
Triglicéridos (mg/dL)			434	454	268
<b>Coagulação</b>					
PT		20,4/11,6	12/11,6		
aPTT		33,2/29	27/29	24/31	
INR		1,76	1,06	0,95	

Tabela descritiva da evolução analítica durante o internamento. aPTT – Tempo parcial de tromboplastina ativada; ALT – Alanina aminotransferase; AST – Aspartato aminotransferase; GGT – Gama-Glutamiltranspeptidase; TP – Tempo de Protrombina; CK – Creatina Cinase

TABELA 2

	<b>Chikungunya</b>	<b>Dengue</b>	<b>Zika</b>
Família do vírus	<i>Togaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>
Modo de transmissão	Homem-mosquito-Homem	Homem-mosquito-Homem	Homem-mosquito-Homem e Homem-Homem
Vetor principal	<i>A. aegypti</i> <i>A. albopictus</i>	<i>A. aegypti</i> <i>A. albopictus</i>	<i>A. aegypti</i> <i>A. albopictus</i>
Transmissão não-vectorial	Raro	Raro	Sim
Sexual	Não	Não	Sim
Aleitamento materno	Não	Não	Sim
Transfusão sanguínea	Raro	Possível	Possível
Tempo de Incubação	3 a 7 dias	3 a 14 dias	3 a 7 dias
Casos assintomáticos (%)	3-30	50-75	≈ 80
Sinais e sintomas	Febre, artralgia	Febre, exantema maculopapular, trombocitopenia	Febre, conjuntivite, artralgia e mialgia
Complicações neurológicas e/ou autoimunes	Infrequente	Infrequente	Síndrome de Guillian-Barré
Complicações de malformações congênitas	Infrequente	Infrequente	Microcefalia
Diagnóstico Laboratorial	RT-PCR (1ª semana) Anticorpo IgM por ELISA (após 5 a 7 dias)	NS1 (até ao 5º dia) RT-PCR (1ª semana) Anticorpo IgM por ELISA (após 5 a 7 dias)	RT-PCR (1ª semana) Anticorpo IgM por ELISA (após 5 a 7 dias)
Tratamento	Sem antiviral específico De suporte	Sem antiviral específico De suporte	Sem antiviral específico De suporte

Tabela comparativa entre Chikungunya, Dengue e Zika, adaptado de Mishra B, Behera B. *The mysterious Zika virus: Adding to the tropical flavivirus mayhem. Journal of Postgraduate Medicine.* 2016;62(4):249-25

